

|                        |                                              |                                                                                        |
|------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| No.                    | 25-1124                                      |                                                                                        |
| Project Title          | 小脳シナプス前部生後発達変化へのアストロサイトの時期特異的制御              |                                                                                        |
| Principal Investigator | Takafumi Miki ( Akita University・Professor ) |                                                                                        |
| Project Member(s)      | IMSUT Host Researcher                        | Tomoji Mashimo ( The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor ) |

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業  
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

## 共同研究報告（年次終了）

脳神経シナプスは神経細胞間情報伝達を担い、脳機能の基盤として働く。生後発達期にシナプスが各脳機能に適した特性を獲得することは、成熟した脳神経回路形成に必須である。

一般的に神経シナプスは、発達初期に過剰に形成された後除去され、残ったシナプスが強化されるという発達過程を経る。特に申請者らの研究から、シナプス強化の過程で、シナプス前終末の分子構成や分子配置が時期特異的に変化することが明らかにされてきたが（Miki et al., JNS 2013, PNAS 2017）、そのメカニズムについては不明な点が多い。近年アストロサイトは、発達時期特異的に様々なホルモンを分泌し、シナプス形成に寄与することが示唆されている（Morizawa et al., Nat Neurosci 2022）。しかし、シナプス形成後のシナプス強化への関与についてはほとんど研究されていない。そこで、本研究では、アストロサイトのみを時期特異的に脱落させる遺伝子改変ラットを共同研究で作成し、これを用いることでシナプス前部のシナプス強化過程へのアストロサイトの影響を調べることを目的としている。

本研究遂行のため、2025～2027年度にかけて以下の項目で実験を計画している。

1. 時期特異的なアストロサイトの細胞死誘導を可能にするラットモデルの作成（2025年度）
2. 時期特異的なアストロサイトの細胞死誘導条件の検討（2026年度）
3. 生後発達初期のシナプス前部機能発達へのアストロサイトの影響の解析（2026～2027年度）
4. 生後発達後期のシナプス前部機能発達へのアストロサイトの影響の解析（2026～2027年度）

2025年度は、項目1について研究を行った。

タモキシフェン投与によりアストロサイト特異的にCre組み換え酵素が発現するラット系統（Aldh111-CreERT2）を作製した。タモキシフェンの投与を胎児（E17）から生後3週目までの期間で検討し、Creが発現するかを東京大学医科学研究所真下研が開発したレポートラットを用いて評価した。現時点では適切な投与プロトコルの確定には至っていないが、RT-qPCRにより、Creの発現は確認している。引き続き、プロトコルの最適化を進める。また、Creの発現により遺伝子組み換えが起こりジフテリア毒素（DTA）が誘導されるラット系統（floxed-DTA）も作成中である。ドナーベクターを作成し、DTAリークによる致死などの発生がないか確認した。現在、系統化を行っている。

上記2系統の評価及び系統化が完了した後に、交配し、タモキシフェンの誘導によりアストロサイトのみで細胞死が起こるラット（Aldh111-CreERT2:floxed-DTA）を作成予定である。